



# (12) 实用新型专利

(10) 授权公告号 CN 201673158 U

(45) 授权公告日 2010.12.15

(21) 申请号 201020198863.1

(22) 申请日 2010.05.19

(73) 专利权人 厦门大学附属中山医院

地址 361004 福建省厦门市思明区湖滨南路  
201-209 号

(72) 发明人 张忠英 杨天赐 林丽蓉 张长弓

(74) 专利代理机构 厦门南强之路专利事务所  
35200

代理人 马应森

(51) Int. Cl.

G01N 33/577(2006.01)

G01N 33/571(2006.01)

G01N 33/543(2006.01)

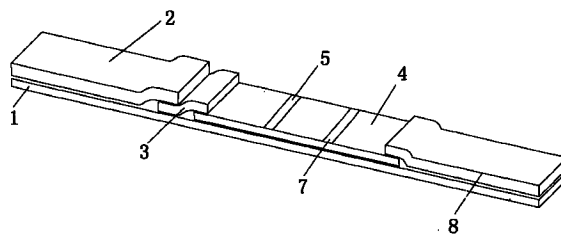
权利要求书 1 页 说明书 7 页 附图 1 页

## (54) 实用新型名称

梅毒特异性 IgG 抗体胶体金免疫层析检测试剂条

## (57) 摘要

梅毒特异性 IgG 抗体胶体金免疫层析检测试剂条, 提供一种可用于全血、血清、血浆及脑脊液等标本中梅毒特异性 IgG 抗体检测的梅毒特异性 IgG 抗体胶体金免疫层析检测试剂条。设载体板、加样垫、胶体金垫、硝酸纤维膜、梅毒特异性 IgG 抗体检测线、对照线和吸收垫; 加样垫、胶体金垫、硝酸纤维膜和吸收垫依次粘贴在载体板上表面, 加样垫一端设在胶体金垫一端上, 胶体金垫另一端设在硝酸纤维膜一端上, 吸收垫一端设在硝酸纤维膜另一端上, 梅毒特异性 IgG 抗体检测线和对照线依次设在硝酸纤维膜上; 在梅毒特异性 IgG 抗体检测线处包被抗人 IgG 特异性片段  $\gamma$  链单克隆抗体, 在对照线处包被羊抗梅毒抗原 TPN17 和 TPN47 的 IgG 抗体。



1. 梅毒特异性 IgG 抗体胶体金免疫层析检测试剂条,其特征在於设有载体板、加样垫、胶体金垫、硝酸纤维膜、梅毒特异性 IgG 抗体检测线、对照线和吸收垫;加样垫、胶体金垫、硝酸纤维膜和吸收垫依次粘贴在载体板上表面,加样垫的一端设在胶体金垫的一端上,胶体金垫的另一端设在硝酸纤维膜的一端上,吸收垫的一端设在硝酸纤维膜的另一端上,梅毒特异性 IgG 抗体检测线和对照线依次设在硝酸纤维膜上;在梅毒特异性 IgG 抗体检测线处包被抗人 IgG 特异性片段  $\gamma$  链单克隆抗体,在对照线处包被羊抗梅毒抗原 TPN17 和 TPN47 的 IgG 抗体。

2. 如权利要求 1 所述的梅毒特异性 IgG 抗体胶体金免疫层析检测试剂条,其特征在於所述载体板为 PVC 板。

## 梅毒特异性 IgG 抗体胶体金免疫层析检测试剂条

### 技术领域

[0001] 本实用新型涉及一种梅毒特异性 IgG 抗体检测试剂,尤其是涉及一种采用胶体金免疫层析技术 (immunochromatography) 进行的梅毒特异性 IgG 抗体快速检测试剂条。

### 背景技术

[0002] 梅毒 (Syphilis) 是一种由梅毒螺旋体 (*Treponema pallidum*, TP) 引起的性传播性疾病,其病原体是梅毒螺旋体,属螺旋体科。梅毒螺旋体主要通过性接触、输血、创口或者胎盘等途径传播。梅毒螺旋体从感染区附近的淋巴结进入血液,播散全身,使机体几乎所有的组织及器官受累,临床表现为全身性,可分为不同临床阶段,包括一期、二期、三期和潜伏期。世界卫生组织 (WHO) 曾乐观地预言:“由于有高敏度检测方法和高效的治疗方案,梅毒是一种能够通过公共卫生措施得到成功控制的性传播性疾病”。遗憾的是,至今梅毒依然是世界范围的公共卫生问题,缺乏有效的行政控制措施,每年全球大约有 1200 万的患者,其中 60 万孕妇患者。(参见:Health Protection Agency Centre for Infections. International Encyclopedia of Public Health-Syphilis[M]. London, UK:Health Protection Agency Centre, 2008, 289-297.) 事实上,梅毒的感染现状可能要比想象中的更让人悲观。

[0003] 调查发现,梅毒感染者已经较广泛地存在于普通人群中。

[0004] 梅毒螺旋体尚不能进行体外培养,梅毒诊断与流行病学调查主要依赖于血清学试验,包括特异性抗体和反应素检测两大类型。梅毒特异性抗体 IgM (TP-IgM) 和 IgG (TP-IgG) 抗体分别于 2 周和 4 周后产生,即使患者经过足够治疗,其仍能长期存在,甚至终身不消失(参见:Luis J F, Felipe U S, Santa G C, et al. Evaluation of a rapid strip and a particle agglutination tests for syphilis diagnosis[J]. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 2007, 59:123-126); 而另一种抗体物质反应素产生较晚,一般在受感染后 5~7 周产生(参见:林月圆. TPPA 和 TRUST 在梅毒诊断中的价值与临床相关问题[J]. 放射免疫学杂志, 2009, 22(3):295-297), 而且晚期梅毒、梅毒治疗后期以及潜伏梅毒可能阴性。因此梅毒特异性抗体的阳性率、敏感性显著高于反应素。TP-IgM 是梅毒感染后,机体最先出现的特异性抗体。只要有活的梅毒螺旋体存在,其 TP-IgM 将会维持在一定的水平。Martina H 等(参见:Martina H, Daan W N, Mart M, et al. Comparison of a *Treponema pallidum* IgM immunoblot with a 19S fluorescent treponemal antibody absorption test for the diagnosis of congenital syphilis[J]. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 2007, 59:61-66.) 认为 TP-IgM 是梅毒早期感染并活动的一项血清学标志,李步荣等(参见:李步荣,贺军涛,张毅,等. 梅毒螺旋体 IgM 抗体检测的临床意义[J]. 第四军医大学学报, 2007, 28(16):1495-1497) 认为 TP-IgM 与 TP-DNA 一样,代表着梅毒传染性指标。在排除近期抗梅毒治疗的前提下,TP-IgM 若不转阴,提示体内可能残存梅毒螺旋体或治疗不彻底。TP-IgM 阴转者随访时再转阳性,表明再次感染梅毒(参见:Rawstron SA, Mehta S, Bromberg K, et al. Evaluation of a *Treponema pallidum* 2 specific

IgMenzyme immunoassay and Treponema pallidum western blot antibody detection in the diagnosis of maternal and congenital syphilis[J]. Sex Transm Dis, 2004, 31(2): 123-126)。尽管 TP-IgM 阴性不能完全排除传染性,但 TP-IgM 阳性必定提示该患者具有传染性。TP-IgG 的出现要迟于 IgM,能长期存在,甚至终身不消失,因此,TP-IgG 是梅毒诊断和流行病学调查的一项重要指标。

[0005] 早期的血清学方法使用完整梅毒螺旋体作为抗原,研究和诊断用的 TP 是以 TP 感染兔睾丸获得,这种方法花费大、获得的 TP 量少、不纯(混有宿主蛋白),与其他病原体存在交叉反应,因此假阳性也时有发生。随着分子生物学技术的普及及梅毒螺旋体抗原的相继克隆,将重组抗原应用于梅毒实验已经越来越多。目前研究比较多的 TP 抗原有 TPN17、TPN47、TPN15、TPN44.5、TPN36、TP0453、TP0684 及 TPr 家族。采用重组 DNA 技术制备的重组抗原可以克服完整 TP 抗原的缺点,能快速、经济地制备无限量特异重组 TP 抗原。

[0006] 梅毒特异性抗体检测是梅毒确证试验,包括 TPHA, TPPA, ELISA, FTA-ABS 及 Western-blot 等,其特异性均较高。然而,面对严峻的防制形式,不但需要特异准确的检测手段,还需要一种更简便快捷的试剂来筛查,以便为临床和疾病防控提供对策。

## 发明内容

[0007] 本实用新型的目的是提供一种可用于全血、血清、血浆及脑脊液等标本中梅毒特异性 IgG 抗体检测的梅毒特异性 IgG 抗体胶体金免疫层析检测试剂条。

[0008] 本实用新型设有载体板、加样垫、胶体金垫、硝酸纤维膜(NC膜)、梅毒特异性 IgG 抗体检测线、对照线和吸收垫。

[0009] 加样垫、胶体金垫、硝酸纤维膜和吸收垫依次粘贴在载体板上表面,加样垫的一端设在胶体金垫的一端上,胶体金垫的另一端设在硝酸纤维膜的一端上,吸收垫的一端设在硝酸纤维膜的另一端上,梅毒特异性 IgG 抗体检测线和对照线依次设在硝酸纤维膜上;在梅毒特异性 IgG 抗体检测线处包被抗人 IgG 特异性片段  $\gamma$  链单克隆抗体,在对照线处包被羊抗梅毒抗原 TPN17 和 TPN47 的 IgG 抗体。

[0010] 所述载体板可采用 PVC 板。

[0011] 以下给出所述梅毒特异性 IgG 抗体胶体金免疫层析检测试剂条的制备方法,包括以下步骤:

[0012] 1) 制备梅毒重组抗原 TPN17 和 TPN47

[0013] 采用基因克隆技术,PCR 扩增编码梅毒螺旋体抗原的 DNA,并插入大肠杆菌中使其表达,得梅毒重组抗原 TPN17 和 TPN47;

[0014] 2) 硝酸纤维素膜的点样

[0015] 在硝酸纤维素膜 IgG 检测线上包被抗人 IgG 特异性片段  $\gamma$  链单克隆抗体,在对照线处包被羊抗梅毒抗原 TPN17 和 TPN47 IgG 抗体,晾干,所述抗人 IgG 特异性片段  $\gamma$  链单克隆抗体的浓度为 1 ~ 4mg/mL,羊抗梅毒抗原 TPN17 和 TPN47 的 IgG 抗体由抗 TPN17-IgG 抗体与抗 TPN47-IgG 抗体按体积比 1 : 1 混合,其终浓度为 1 ~ 4mg/mL;三者点样量为 1  $\mu$  L/cm;

[0016] 3) 制备胶体金

[0017] 采用柠檬酸三钠还原方法制备 25nm 胶体金,取 1% 氯金酸 1mL 加入到 100mL 去离

子双蒸水中,得到的氯金酸浓度为 0.01%,置于带冷凝装置的烧瓶中加热至沸腾,磁力加热搅拌下加入 1%柠檬酸三钠水溶液 2.0mL,继续加热直至溶液呈葡萄酒色为止,冷却后置于棕色瓶中 4℃冰箱保存备用,所述柠檬酸三钠的浓度可为 2%;

[0018] 4) 胶体金与 TPN17、TPN47 的标记

[0019] 胶体金与梅毒特异性抗原 TPN17 的标记:取胶体金 10ml,用 0.1mol/L NaOH 调至 pH5.4,加 100 μg TPN17,混匀,放置 5min,加入 5% BSA 1ml 混匀,4℃、10000r/min 离心 1h,弃上清,将沉淀用 TBS 缓冲液溶解至 10ml,4℃、10000r/min 离心 1h,弃上清,沉淀用 TBS 稀释至 1ml,得胶体金标记的 TPN17 抗原;

[0020] 胶体金与梅毒特异性抗原 TPN47 的标记同上操作,得胶体金标记的 TPN47 抗原;

[0021] 将胶体金标记的 TPN17 抗原和胶体金标记的 TPN47 抗原混合后,均匀地涂于玻璃纤维膜上,烘干,制备成胶体金垫;

[0022] 所述将胶体金标记的 TPN17 抗原和胶体金标记的 TPN47 抗原混合,最好胶体金标记的 TPN17 抗原和胶体金标记的 TPN47 抗原以体积比 1 : (0.2 ~ 5) 混合;所述烘干的温度可为 37℃;

[0023] 5) 制备免疫层析检测条

[0024] 将加样垫、胶体金垫、硝酸纤维膜和吸收垫依次粘贴在载体板上表面,加样垫的一端设在胶体金垫的一端上,胶体金垫的另一端设在硝酸纤维膜的一端上,吸收垫的一端设在硝酸纤维膜的另一端上,梅毒特异性 IgG 抗体检测线和对照线依次设在硝酸纤维膜上;在梅毒特异性 IgG 抗体检测线处包被抗人 IgG 特异性片段 γ 链单克隆抗体,在对照线处包被羊抗梅毒抗原 TPN17 和 TPN47 的 IgG 抗体,用切条机切成条状,得梅毒特异性 IgG 抗体胶体金免疫层析检测试剂条。

[0025] 本实用新型提供了一种可用于全血、血清、血浆及脑脊液等标本中梅毒特异性 IgG 抗体检测的梅毒特异性 IgG 抗体胶体金免疫层析检测试剂条,检测所需标本量极小,不需要特殊仪器,肉眼直接判读结果,且检测简便快速,特异性强,灵敏度较高,准确可靠,成本较低,应用广泛。

## 附图说明

[0026] 图 1 为本实用新型实施例的结构组成示意图。

[0027] 图 2 为实验结果模式示意图。在图 2 中,A 为使用前的示意图,B 为无效试验(产品质量问题),C 为阴性结果,D 为 TP-IgG 阳性结果;5 为梅毒特异性 IgG 抗体检测线,7 为对照线。

## 具体实施方式

[0028] 以下实施例将结合附图对本实用新型作进一步的说明。

[0029] 参见图 1,本实用新型实施例设有载体板 1、加样垫 2、胶体金垫 3、硝酸纤维膜(NC 膜)4、梅毒特异性 IgG 抗体检测线 5、对照线 7 和吸收垫 8。加样垫 2、胶体金垫 3、硝酸纤维膜 4 和吸收垫 8 依次粘贴在载体板 1 上表面,加样垫 2 的一端设在胶体金垫 3 的一端上,胶体金垫 3 的另一端设在硝酸纤维膜 4 的一端上,吸收垫 8 的一端设在硝酸纤维膜 4 的另一端上,梅毒特异性 IgG 抗体检测线 5 和对照线 7 依次设在硝酸纤维膜 4 上;在梅毒特异性

IgG 抗体检测线处包被抗人 IgG 特异性片段  $\gamma$  链单克隆抗体,在对照线 7 处包被羊抗梅毒抗原 TPN17 和 TPN47 的 IgG 抗体。

[0030] 所述载体板 1 采用 PVC 板。

[0031] 所述梅毒特异性 IgG 抗体胶体金免疫层析检测试剂条的制备方法,包括以下步骤:

[0032] 1) 制备梅毒重组抗原 TPN17 和 TPN47

[0033] 采用基因克隆技术,PCR 扩增编码梅毒螺旋体抗原的 DNA,并插入大肠杆菌中使其表达,得梅毒重组抗原 TPN17 和 TPN47。

[0034] 2) 硝酸纤维素膜的点样

[0035] 在硝酸纤维素膜 IgG 检测线上包被抗人 IgG 特异性片段  $\gamma$  链单克隆抗体,在对照线处 (C) 包被羊抗梅毒抗原 TPN17 和 TPN47 IgG 抗体,晾干,所述抗人 IgG 特异性片段  $\gamma$  链单克隆抗体的浓度为 1 ~ 4mg/mL,羊抗梅毒抗原 TPN17 和 TPN47 的 IgG 抗体由抗 TPN17-IgG 抗体与抗 TPN47-IgG 抗体按体积比 1 : 1 混合,其终浓度为 1 ~ 4mg/mL ;三者点样量为 1  $\mu$  L/cm。

[0036] 3) 制备胶体金

[0037] 采用柠檬酸三钠还原方法制备 25nm 胶体金,取 1% 氯金酸 1mL 加入到 100mL 去离子双蒸水中,得到的氯金酸浓度为 0.01%,置于带冷凝装置的烧瓶中加热至沸腾,磁力加热搅拌下加入 1% 柠檬酸三钠水溶液 2.0mL,继续加热直至溶液呈葡萄酒色为止,冷却后置于棕色瓶中 4°C 冰箱保存备用,所述柠檬酸三钠的浓度可为 2%。

[0038] 4) 胶体金与 TPN17、TPN47 的标记

[0039] 胶体金与梅毒特异性抗原 TPN17 的标记:取胶体金 10ml,用 0.1mol/L NaOH 调至 pH5.4,加 100  $\mu$  g TPN17,混匀,放置 5min,加入 5% BSA 1ml 混匀,4°C、10000r/min 离心 1h,弃上清,将沉淀用 TBS 缓冲液溶解至 10ml,4°C、10000r/min 离心 1h,弃上清,沉淀用 TBS 稀释至 1ml。

[0040] 胶体金与梅毒特异性抗原 TPN47 的标记同上操作,得胶体金标记的 TPN47 抗原。

[0041] 将胶体金标记的 TPN17 抗原和胶体金标记的 TPN47 抗原混合后,均匀地涂于玻璃纤维膜上,烘干,制备成胶体金垫。所述将胶体金标记的 TPN17 抗原和胶体金标记的 TPN47 抗原混合,是胶体金标记的 TPN17 抗原和胶体金标记的 TPN47 抗原以体积比 1 : (0.2 ~ 5) 混合;所述烘干的温度为 37°C。

[0042] 5) 制备免疫层析检测条

[0043] 将加样垫、胶体金垫、硝酸纤维素膜和吸收垫依次粘贴在载体板上表面,加样垫的一端设在胶体金垫的一端上,胶体金垫的另一端设在硝酸纤维素膜的一端上,吸收垫的一端设在硝酸纤维素膜的另一端上,梅毒特异性 IgG 抗体检测线和对照线依次设在硝酸纤维素膜上;在梅毒特异性 IgG 抗体检测线处包被抗人 IgG 特异性片段  $\gamma$  链单克隆抗体,在对照线处包被羊抗梅毒抗原 TPN17 和 TPN47 的 IgG 抗体,用切条机切成条状,得梅毒特异性 IgG 抗体胶体金免疫层析检测试剂条。

[0044] 以下给出免疫层析法检测患者的临床标本:

[0045] 取待检标本(全血、血清、血浆、脑脊液)5 ~ 40  $\mu$  L,加样于梅毒特异性 IgG 抗体胶体金免疫层析检测试剂条样品处,滴加 100  $\mu$  L 生理盐水,静置 20min 观察结果。只在检测

条对照区有一紫红色条带出现,则判为阴性;在检测区及对照区均有一紫红色条带出现,则判为阳性;加样检测后,检测区和对照区均不出现紫红色条带,为无效结果(参见图2)。

[0046] 以下给出梅毒特异性 IgG 抗体胶体金免疫层析检测试剂条的性能检定:

[0047] 1) 外观检查:白色包被反应膜平整、干净无污染斑点、无裂缝,胶带无开胶,无切割现象。

[0048] 2) 阳性标本符合率:用 TP-IgG 阳性的不同滴度的阳性参比血清各 50 份采用梅毒特异性 IgG 抗体胶体金免疫层析检测试剂条检定,计算阳性符合率。阳性参比血清的确定采用 FTA-ABS(德国欧蒙公司)法确定的临床标本。

[0049] 3) 阴性标本符合率:用 50 份阴性参比血清检定,计算阳性符合率。阴性参比血清的确定采用 TPPA(日本富士株式会社)法确定的临床标本。

[0050] 4) 灵敏度检测:用卫生部室内质控血清检测,最低检出限度应小于或等于 4NCU/mL,与 TPPA(日本富士株式会社)相当。

[0051] 5) 批内差异:同一批次梅毒特异性 IgG 抗体胶体金免疫层析检测试剂条,用特征性血清检测,要求阳性血清检测结果显示色带的颜色深浅一致,阴性血清检测的结果阴性。

[0052] 6) 批间差异:不同批次梅毒特异性 IgG 抗体胶体金免疫层析检测试剂条,用特征性血清检测,要求阳性血清检测结果显示色带的颜色深浅一致,阴性血清检测的结果阴性。

[0053] 7) 干扰试验:检测结果不受标本溶血( $n = 50$ )、脂血( $n = 50$ )和黄疸( $n = 50$ )的干扰。血清(或血浆)来自本申请人临床标本。

[0054] 8) 交叉反应:采用本梅毒特异性 IgG 抗体胶体金免疫层析检测试剂条,进行系统性红斑狼疮( $n = 30$ )、类风湿病( $n = 30$ )、免疫性肝炎( $n = 30$ )等自身免疫系统疾病的检测,未发现交叉反应。自身免疫系统疾病的血清来自本申请人临床确诊患者。

[0055] 9) 稳定性检测:应用 Arrhenius 法则,将梅毒特异性 IgG 抗体胶体金免疫层析检测试剂条放置 37°C 20 天后检测,以上各项指标无显著变化,确保成品在室温干燥条件下保存,有效期为 18 个月。

[0056] 本实用新型的检测在一条梅毒特异性 IgG 抗体胶体金免疫层析检测试剂条上进行,通过以下两种方式实现梅毒特异性 IgG 抗体的检测:

[0057] 方式一:利用胶体金免疫层析技术,在硝酸纤维素膜上 IgG 检测线和对照线处分别包被抗人 IgG 特异性片段  $\gamma$  链单克隆抗体和羊抗梅毒抗原 TPN17 和 TPN47 IgG 抗体。将已纯化的金标记的梅毒重组抗原 TPN17 和 TPN47 以一定的比例混合后预包被在玻璃纤维纸上,干燥处理,制备成胶体金垫,再辅以恰当的加样垫,组合成梅毒特异性 IgG 抗体胶体金免疫层析检测试剂条(组装方式参见图 1)。检测阳性样本时,样本中梅毒特异性 IgG 抗体与胶体金标记的重组抗原 TPN17 和 / 或 TPN47 结合形成免疫复合物。由于层析作用,复合物沿吸收垫的吸水纸方向向前移动。经过检测线时,① TP-IgG 类免疫复合物与预包被的抗人 IgG 单克隆抗体结合形成“Au-TPN17(和 / 或 TPN47)-特异性抗梅毒 IgG 抗体-抗人 IgG 单克隆抗体-固相材料”夹心物而凝聚显色;②游离金标抗原则在对照线处与羊抗梅毒抗原 TPN17 和 TPN47 抗体结合而富集显色。阴性标本则仅在对照线处显色。

[0058] 方式二:将方式一的包被抗原、抗体对调:在硝酸纤维素膜上 IgG 检测线和对照线处分别包被梅毒重组抗原(TPN17/TPN47 组合)和羊抗鼠 IgG 抗体,将金标记的抗人 IgG 特异性片段  $\gamma$  链单克隆抗体预包被在玻璃纤维纸上。

[0059] 载体板采用 PVC 材料,加样垫采用玻璃纤维材料,吸收垫采用吸液纸。

[0060] 以下给出具体实施例。

[0061] 实施例 1

[0062] 在梅毒特异性 IgG 抗体检测线上包被抗人 IgG 特异性片段  $\gamma$  链单克隆抗体,在对照线处包被羊抗梅毒抗原 TPN17 和 TPN47 抗体,室温晾干,密封室温保存备用。其中,抗人 IgG 特异性片段  $\gamma$  链单克隆抗体的浓度为 1mg/mL,羊抗梅毒抗原 (TPN17 和 TPN47) IgG 抗体由抗 TPN17-IgG 抗体与抗 TPN47-IgG 抗体按体积比 1 : 1 混合,其终浓度为 1mg/mL ;二者点样量为  $1 \mu\text{l}/\text{cm}$ 。

[0063] 将已纯化的金标记的梅毒重组抗原 TPN17 和 TPN47 以体积比 1 : 1 混合后,均匀地涂于玻璃纤维纸上,在  $37^{\circ}\text{C}$  烘干,制备成金结合物垫,密封备用。将固相化的纤维膜与胶体金结合的玻璃纤维、吸水纸等按一定顺序,通过 PVC 不干胶底板组合在一起,用切条机切成一定宽度检测条。把检测条与干燥剂一起装入铝箔袋中,机器封口,密封保存。

[0064] 取待检标本血清  $10 \mu\text{L}$ ,加样于梅毒特异性 IgG 抗体胶体金免疫层析检测试剂条加样区,同时滴加  $100 \mu\text{L}$  生理盐水,静置 20min 观察结果。只在梅毒特异性 IgG 抗体胶体金免疫层析检测试剂条对照区有一紫红色条带出现,则判为阴性 ;在检测区及对照区均有一紫红色条带出现,则判为阳性 ;加样检测后,检测区和对照区均不出现紫红色条带,为无效结果 (参见图 2)。

[0065] 实施例 2

[0066] 与实施例 1 相似,区别在于胶体金垫仅由 TPN17 组成,不含有 TPN47。结果判断与实施例 1 相同。

[0067] 实施例 3

[0068] 与实施例 1 相似,区别在于胶体金垫仅由 TPN47 组成,不含有 TPN17。结果判断与实施例 1 相同。

[0069] 实施例 4

[0070] 与实施例 1 相似,区别在于待检标本为脑脊液标本,结果判断与实施例 1 相同。

[0071] 实施例 4

[0072] 性能验证试验 :按实施例 1 的方案制备梅毒特异性 IgG 抗体胶体金免疫层析检测试剂条,然后进行性能验证。

[0073] 1) 外观检查 :白色包被反应膜平整、干净无污染斑点、无裂缝,胶带无开胶,梅毒特异性 IgG 抗体胶体金免疫层析检测试剂条宽度在  $3 \pm 0.1\text{mm}$ ,无切斜现象。

[0074] 2) 阳性标本符合率 :50 份经 FTA-ABS (德国欧蒙公司) 检测确定的 TP-IgG 阳性参比血清,采用发明的梅毒特异性 IgG 抗体胶体金免疫层析检测试剂条检出 TP-IgG 阳性 49 份,阳性标本符合率 98%。

[0075] 3) 阴性标本符合率 :50 份梅毒螺旋体特异性抗体明胶凝集试验 (TPPA) (日本富士株式会社) 阴性参比血清,采用发明的梅毒特异性 IgG 抗体胶体金免疫层析检测试剂条检测未检出阳性标本,阴性标本符合率 100%。

[0076] 4) 灵敏度检测 :用卫生部室内质控血清检测,最低检出限度应小于或等于  $4\text{NCU}/\text{mL}$ ,与 TPPA (日本富士株式会社) 相当。

[0077] 5) 批内差异 :同一批次梅毒特异性 IgG 抗体胶体金免疫层析检测试剂条,用特征



性阳性血清 (FTA-ABS (德国欧蒙公司) 检测确定的临床标本阳性 TP-IgG 参比高、中、低血清) 检测, 相同滴度检测结果显示色带的颜色深浅一致, 阴性血清检测的结果阴性。

[0078] 6) 批间差异: 不同批次梅毒特异性 IgG 抗体胶体金免疫层析检测试剂条, 用特征性阳性血清 (FTA-ABS (德国欧蒙公司) 检测确定的临床标本阳性 TP-IgG 参比高、中、低血清) 检测, 相同滴度检测结果显示色带的颜色深浅一致, 阴性血清检测的结果阴性。

[0079] 7) 干扰试验: 检测结果不受标本溶血 ( $n = 50$ )、脂血 ( $n = 50$ ) 和黄疸 ( $n = 50$ ) 的干扰。

[0080] 8) 交叉反应: 采用本梅毒特异性 IgG 抗体胶体金免疫层析检测试剂条, 进行系统性红斑狼疮 ( $n = 30$ )、类风湿病 ( $n = 38$ )、免疫性肝炎 ( $n = 40$ ) 等自身免疫系统疾病的检测, 未发现交叉反应。

[0081] 9) 稳定性检测: 将梅毒特异性 IgG 抗体胶体金免疫层析检测试剂条放置  $37^{\circ}\text{C}$  20 天后检测, 以上各项指标无显著变化。

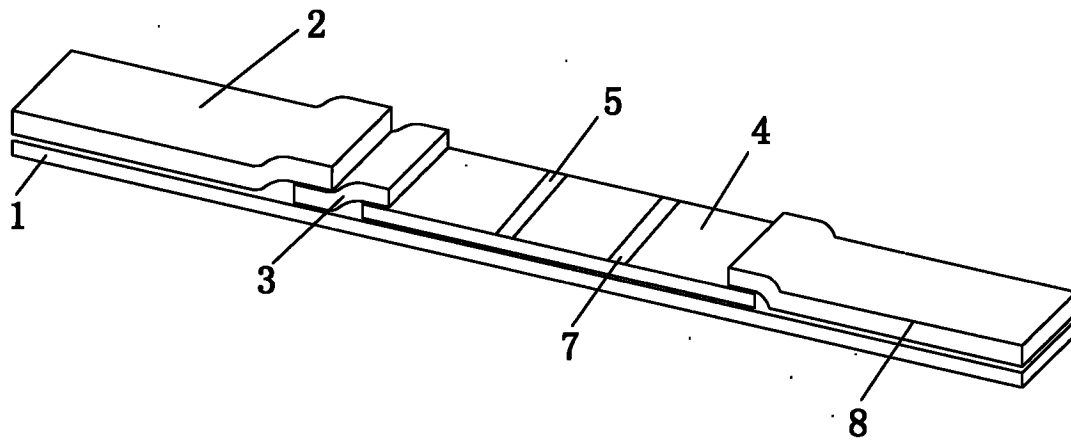


图 1

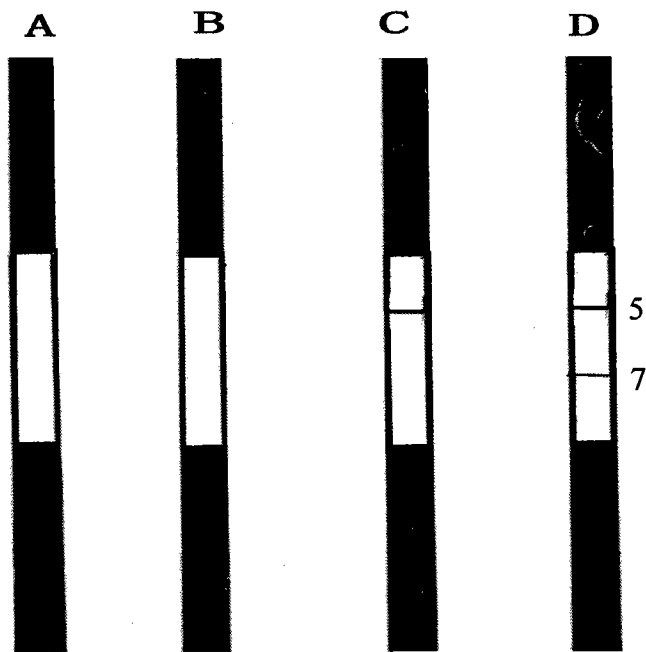


图 2